इंटरनेट मानक

Disclosure to Promote the Right To Information

Whereas the Parliament of India has set out to provide a practical regime of right to information for citizens to secure access to information under the control of public authorities, in order to promote transparency and accountability in the working of every public authority, and whereas the attached publication of the Bureau of Indian Standards is of particular interest to the public, particularly disadvantaged communities and those engaged in the pursuit of education and knowledge, the attached public safety standard is made available to promote the timely dissemination of this information in an accurate manner to the public.

"जानने का अधिकार, जीने का अधिकार"
Mazdoor Kisan Shakti Sangathan
"The Right to Information, The Right to Live"

"पुराने को छोड नये के तरफ"
Jawaharlal Nehru
"Step Out From the Old to the New"

IS 2557 (B) (1994): Annatto colour for food products - Specification [FAD 8: Food Additives]

"ज्ञान से एक नये भारत का निर्माण"
Satyanarayan Gangaram Pitroda
"Invent a New India Using Knowledge"

Act Number 22 of 2005
The Indian Parliament
RIGHT TO INFORMATION

Made Available By
Public.Resource.Org

"ज्ञान एक ऐसा खजाना है जो कभी चुराया नहीं जा सकता है"
Bhartṛhari—Nītiśatakam
"Knowledge is such a treasure which cannot be stolen"

BLANK PAGE

BRUTUM FULMEN

IGNORANTIA JURIS NON EXCUSAT

PROTECTED BY COPYRIGHT

आईएस/IS 2557 : 1994
(द्विभाषी/Bilingual)
(पुनर्पुष्ट/Reaffirmed 2004)

भारतीय मानक

खाद्य उत्पादों के लिए अन्नाटो रंग — विशिष्टि

(*पहला पुनरीक्षण*)

(संशोधन संख्या 1 और 2 समाविष्ट)

Indian Standard

ANNATTO COLOUR FOR FOOD PRODUCTS — SPECIFICATION

(*First Revision*)

(Incorporating Amendments No. 1 and 2)

यूडीसी/UDC 633.863.92 : 637.2/.3

© भा मा ब्यूरो 2012

भारतीय मानक ब्यूरो
मानक भवन, 9 बहादुर शाह ज़फर मार्ग
नई दिल्ली 110002

© BIS 2012

BUREAU OF INDIAN STANDARDS
MANAK BHAVAN, 9 BAHADUR SHAH ZAFAR MARG
NEW DELHI 110002

फरवरी/*February* 2012 **मूल्य वर्ग/Price Group 2**

खाद्य संयोजी विभागीय समिति, एफएडी 8

प्राक्कथन

इस भारतीय मानक (पहला पुनरीक्षण) के मसौदे को खाद्य संयोजी विभागीय समिति द्वारा अंतिम रूप दिए जाने तथा खाद्य और कृषि विभाग परिषद द्वारा अनुमोदित किए जाने के बाद भारतीय मानक ब्यूरो द्वारा ग्रहण किया गया।

अन्नाटो रंग एरिल (बीज की कोटिंग) जिसे वाणिज्यिक भाषा में सामान्य रूप से *बिक्सा ओरीलेना*-एल. के पौधे के बीज के रूप में माना जाता है, से प्राप्त किया जाता है। तेल में इसका घोल मक्खन और अन्य खाद्य पदार्थों को रंग देने के लिए प्रयोग किया जाता है जबकि पानी में इसका घोल और उसमें थोड़ा सा अल्काली मिला कर पनीर और अन्य समान प्रकार के उत्पादों को रंग देने के लिए किया जाता है।

यह मानक प्राकृतिक खाद्य रंगों की भारतीय मानकों की शृंखलाओं में से एक है जिसकी अनुमति स्वास्थ्य मंत्रालय, भारत सरकार द्वारा जारी *खाद्य अपमिश्रण निवारण नियम*, 1955 तथा उसके नवीनतम संशोधनों द्वारा दी गई है। इस मानक को तैयार करने के लिए इन नियमों पर विशेष ध्यान दिया गया है। *तौल एवं माप मानकों (डिब्बाबंद वस्तुएं) नियम*, 1977 पर भी विशेष ध्यान दिया गया है। तथापि, यह मानक इन नियमों के अंतर्गत लगाए गए प्रतिबंध की शर्त जहां भी लागू हो, पर लागू होता है।

यह मानक सबसे पहले 1963 में प्रकाशित किया गया था। देश में प्रौद्योगिकीय विकास को ध्यान में रखते हुए तथा अंतर्राष्ट्रीय विशिष्टियों के बराबर लाने के लिए इसका पुनरीक्षण किया गया है। इस पुनरीक्षण में कैरटीनायड्स की न्यूनतम सीमाएं तथा भारी धातुओं की अधिकतम तथा अन्नाटो के लिए पहचान परीक्षणों को भी शामिल किया गया है।

Food Additives Sectional Committee, FAD 8

FOREWORD

This Indian Standard (First Revision) was adopted by the Bureau of Indian Standards, after the draft finalized by the Food Additives Sectional Committee had been approved by the Food and Agriculture Division Council.

Annatto colour is obtained from the aril (coating of the seed) commonly known in commerce as the seed of the plant *Bixa orellana* L. Its solution in oil is used for colouring butter and other food products while its solution in water with a little alkali is used for colouring cheese and other similar products.

This standard is one of a series of Indian Standards on natural food colours permitted under the *Prevention of Food Adulteration Rules*, 1955 with the latest amendments, issued by the Ministry of Health, Government of India. In the preparation of this standard due consideration has been given to these Rules. Due consideration has also been given to the *Standards of Weights and Measures* (*Packaged Commodities*) *Rules*, 1977. However, this standard is subject to the restriction imposed under these Rules wherever applicable.

This standard was first published in 1963. It has been revised taking into account the latest technological developments in the country and also to bring it in line with the International specifications. In this revision minimum limits for carotenoids and maximum limits for heavy metals have been included as well as identification tests for annatto.

इस मानक को तैयार करने के लिए निम्नलिखित प्रकाशनों से भी सहायता ली गई है।

खाद्य संयोजियों की पहचान व शुद्धता के लिए विशिष्टि, खाद्य एवं पौष्टिकता पेपर, 19, संयुक्त राष्ट्र संघ तथा विश्व स्वास्थ्य संगठन की खाद्य एवं कृषि संगठन द्वारा प्रकाशित।

फूड केमीकल कोडेक्स, विज्ञान और राष्ट्रीय अनुसंधान परिषद की राष्ट्रीय अकादमी, वाशिंगटन डीसी, संयुक्त राज्य अमरीका, द्वारा प्रकाशित। 1981 के संस्करण का द्वितीय परिशिष्ट।

विवरण

श्रेणी - कॉरटेनाईडस
कोड संख्या - सीआई (1975) संख्या 75120
सीआई (1975) प्राकृतिक संतरा 4
ईईसी संख्या ई-160 बी

रासायनिक नाम

तेल में अन्नाटो तत्त्व के बहुत से रंगीन संघटक होते हैं। इनमें से एक प्रमुख बिक्सिन है जो *सीआईएस* तथा *ट्रांस* दोनों प्रकारों में हो सकता है। बिक्सिन के थर्मल डीग्रेडेशन प्रॉडक्ट्स भी विद्यमान हो सकते हैं।

पानी में घुलनशील अन्नाटो में नौरबिक्सिन तत्त्व निहित होता है। यह बिक्सिन का हाइड्रोलिसिस उत्पाद है जो सोडियम या पोटेशियम साल्ट के रूप में होता है और यह रंगने (कलरिंग) का प्रमुख सिद्धांत है। *सीआईएस* और *ट्रांस* दोनों प्रकार इसमें विद्यमान हो सकते हैं।

रासायनिक फार्मूला – बिक्सिन $\text{सी}_{25}\text{एच}_{30}\text{ओ}_{4}$
नॉरबिक्सिन $\text{सी}_{24}\text{एच}_{28}\text{ओ}_{4}$

In the preparation of this standard, assistance has been derived from the following publications.

Specification for Identity and Purity of Food Additives, Food and Nutrition Paper 19, published by Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Health Organization.

Food Chemical Codex published by the National Academy of Sciences and National Research Council, Washington DC, USA. Second supplement of 1981 Edition.

Description

Class — Carotenoids
Code Number — CI (1975) No. 75120
CI (1975) Natural Orange 4
EEC No. E-160 b

Chemical Name

Annatto extract in oil contains several coloured components, the major single one being bixin, which may be present in both *Cis* and *trans* forms. Thermal degradation products of bixin may also be present.

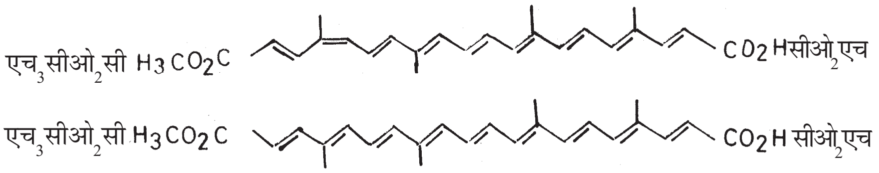
Water soluble annatto contains norbixin the hydrolysis product of bixin, in the form of sodium or potassium salt, as the major colouring principle. Both *Cis* and *trans* forms may be present.

Chemical Formula — Bixin $C_{25}H_{30}O_{4}$
Norbixin $C_{24}H_{28}O_{4}$

संरचनात्मक फार्मूला
Structural Formula

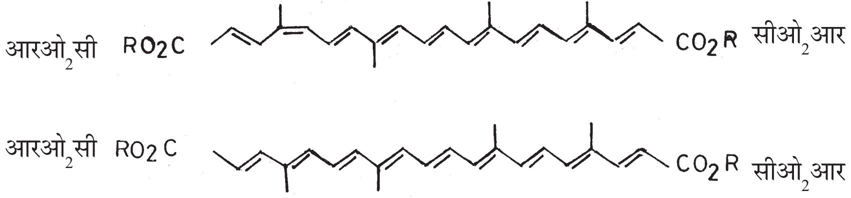
सीआईएस और ट्रांस बिक्सिन
की संरचना

CIS AND TRANS BIXINS
HAVE THE STRUCTURES



सीआईएस और ट्रांस नॉरबिक्सिन
(एनए अथवा के साल्ट्स)
की संरचना

CIS AND TRANS NORBIXINS
(Na OR K SALTS) HAVE THE
STRUCTURES



where R= Na or K

जहाँ, R = Na अथवा K

आणविक भार –	बिक्सिन	394.50
	नॉरबिक्सिन	380.48

यह निश्चित करने के लिए कि इस मानक में किसी अपेक्षा विशेष का पालन किया गया है या नहीं, तो परीक्षण या विश्लेषण में परिणाम को दर्शाने वाले अवलोकन या गणना द्वारा प्राप्त अंतिम मान को आईएस 2 : 1960 'संख्यात्मक मानों के पूर्णांकन संबंधी नियम (*पुनरीक्षित*)' के अनुसार पूर्णांकित कर दिया जाए। पूर्णांकित मान में रखे गए सार्थक स्थानों की संख्या उतनी ही हो जितनी इस मानक में निर्दिष्ट मान की है।

Molecular Weight —	Bixin	394.50
	Norbixin	380.48

For the purpose of deciding whether a particular requirement of this standard is complied with, the final value, observed or calculated, expressing the result of a test or analysis, shall be rounded off in accordance with IS 2 : 1960 'Rules for rounding off numerical values (*revised*)'. The number of significant places retained in the rounded off value should be the same as that of the specified value in this standard.

भारतीय मानक

खाद्य उत्पादों के लिए अन्नाटो रंग — विशिष्टि

(पहला पुनरीक्षण)

Indian Standard

ANNATTO COLOUR FOR FOOD PRODUCTS — SPECIFICATION

(First Revision)

1 विषय क्षेत्र

1.1 यह मानक मक्खन, पनीर और अन्य खाद्य पदार्थों में प्रयोग किए जाने वाले अन्नाटो रंग जो कि *बिक्सा ओरीलेना*–एल. पौधे से प्राप्त कर (क) तेल में घोल, और (ख) पानी में घोलकर उपलब्ध कराया जाता है, की आवश्यकताओं और परीक्षण की प्रक्रियाओं का निर्धारण करता है।

2 संदर्भ

अनुबंध क में दर्शाए गए भारतीय मानक इस मानक के आवश्यक सहायक हैं।

3 प्रकार

3.1 सामग्री निम्नलिखित दो प्रकार की होंगी:

क) मक्खन और अन्य खाद्य पदार्थों में प्रयोग के लिए तेल में घोल; और

ख) पनीर और अन्य खाद्य पदार्थों में प्रयोग के लिए पानी में घोल।

4 अपेक्षाएँ

4.1 सामान्य

सामग्री आवश्यक रूप से केवल *बिक्सा ओरीलेना*–एल. पौधे से ही ली जानी चाहिए और कोई भी अन्य अतिरिक्त रंगने वाली सामग्री नहीं होनी चाहिए। इसे लाइसेंस वाले क्षेत्रों में (*देखें* आईएस 2491 : 1972) तैयार करना, पैक करना, भंडारण करना और स्वच्छ परिस्थितियों में वितरित करना होगा।

4.2 मक्खन और अन्य खाद्य पदार्थों में प्रयोग के लिए तेल में अन्नाटो रंग का घोल

4.2.1 तेल में घोल निलंबन के रूप में अन्नाटो अर्क बीजों के छिलकों को वनस्पति तेल की सहायता से निकालकर तैयार किया जाता है। तेल में अन्नाटो रंग का घोल तैयार करने के लिए केवल *खाद्य अपमिश्रण निवारण नियम,* 1955 में शामिल वनस्पति तेल का प्रयोग अकेले अथवा मिश्रण के रूप में किया

1 SCOPE

1.1 This standard prescribes the requirements and the methods of test for annatto colour derived from the plant *Bixa orellana* L. and supplied in the form of (a) solution in oil, and (b) solution in water, for use in butter, cheese and other food products.

2 REFERENCES

The Indian Standards listed at Annex A are necessary adjuncts to this standard.

3 TYPES

3.1 The material shall be of the following two types:

a) Solution in oil for use in butter and other food products, and

b) Solution in water for use in cheese and other food products.

4 REQUIREMENTS

4.1 General

The material shall be derived only from the plant *Bixa orellana* L. and shall not contain any extraneous colouring matter. It shall be processed, packed, stored and distributed under hygienic conditions in licenced premises (*see* IS 2491 : 1972).

4.2 Solution of Annatto Colour in Oil for Use in Butter and Other Food Products

4.2.1 Annatto extract in oil, as solution or suspension, is prepared by extraction of the outer coating of seeds with vegetable oils. In the preparation of the solution of annatto colour in oil, only the vegetable oils included under the *Prevention of Food Adulteration Rules*, 1955 shall be used, either singly or in a mixture

जाए और वह संबंधित भारतीय मानक, जहां कहीं हो, के अनुरूप हो।

4.2.2 तेल में अन्नाटो रंग का घोल उपयुक्त डिब्बों में 15°सें. पर भंडार में साफ रहना चाहिए सिवाय थोड़े स्टिअरिन के अलावा या सस्पेंशन के रूप में होना चाहिए। बिक्सिन अंश को 0.24 प्रतिशत तक लाने के लिए गरम तेल के साथ घोलने पर यह घोल साफ होना चाहिए।

4.2.3 *रंग*

1 : 1 000 (*डब्ल्यू/वी*), पर घोलने पर एमिल एसिटेट में घोल के रंग (आईएस 231 : 1957 *देखें*) को जब 1-सेमी. सैल के साथ लोबी बॉण्ड टिंटोमीटर में मापा जाए तो वह निम्नलिखित से कम नहीं होना चाहिए:

पीली इकाइयां	5.0
लाल इकाइयां	0.4

या उसका रंग निम्नलिखित इनआर्गेनिक घोल के 1 सेमी. की द्रवीय गहराई के रंग से कम नहीं होना चाहिए। इसका उपयोग प्लंगर टाइप कलरीमीटर में बनाए गए रंग का मैचिंग करने के लिए दिन के प्रकाश में उपयोग किया जा सकता है:

पोटेशियम बाइक्रोमेट	0.320 ग्राम
कोबाल्ट अमोनियम सल्फेट [सीओएसओ$_4$, (एनएच$_4$)$_2$ एसओ$_4$, 6एच$_2$ओ]	2.02 ग्राम
सलफ्यूरिक एसिड एसपी-जीआर 1.84	2 मिली.
डिस्टिल्ड वॉटर	एक लीटर घोल बनाने के लिए

ये रीजेंट विश्लेषणात्मक रीजेंट ग्रेड के होंगे (आईएस 250 : 1964 और आईएस 266 : 1993 *देखें*)। यद्यपि घोल अपनी मूल मान्यता काफी समय तक बनाए रखता है लेकिन प्रयोग करने से पहले उसे काफी समय तक उसकी क्लेरिटी की जांच की जानी चाहिए ताकि यह सुनिश्चित किया जा सके कि उसमें कोई परिवर्तन नहीं हुआ है।

टिप्पणियां

1 एमिल एसीटेट में अन्नाटो रंग का पानी डला हुआ घोल अपने रंग की गुणवत्ता को नहीं बनाए रख सकता, विशेषकर तब जबकि उसे प्रकाश में रखा जाए। घोल को बिना देरी किए माप लिया जाना चाहिए।

2 टिंटोमीटर का प्रयोग करते समय उसके निर्माता के निर्देशों का सख्ती से पालन किया जाना चाहिए।

4.3 पनीर और अन्य खाद्य पदार्थों में पानी में अन्नाटो रंग के घोल का प्रयोग

4.3.1 पानी में घुलनशील अन्नाटो बीजों की बाहरी कोटिंग को एक्वीयस अल्कली (सोडियम या पोटेशियम हाइड्रोक्साईड) द्वारा निचोड़कर तैयार किया जाता है। इस घोल को तैयार करते समय पीने योग्य पानी का उपयोग करना चाहिए। अल्कली की थोड़ी मात्रा (0.5 से 3 प्रतिशत) डाली जाए (आईएस 376 : 1986 और आईएस 296 : 1986 *देखें*)।

and shall conform to relevant Indian Standard where it exists.

4.2.2 The solution of annatto colour in oils shall be clear and shall remain so on storage in suitable containers at 15°C except for a slight deposit of stearine or shall be in the form of a suspension. The suspension on dilution with hot oil to bring the bixin content to 0.24 percent shall be a clear solution.

4.2.3 *Colour*

The colour of solution in amyl acetate (*see* IS 231 : 1957) at a dilution of 1 : 1 000 (*w/v*), when measured in a Lovibond Tintometer with a 1-cm cell, shall be not less than the following:

Yellow units	5.0
Red units	0.4

or be not less than the colour of the following inorganic solution at a liquid depth of one centimetre which may be employed for matching the stated dilution in a plunger type colorimeter using incident light closely approximating the north day light:

Potassium bichromate	0.320 g
Cobalt ammonium sulphate [$CoSO_4$, $(NH_4)_2$ SO_4, $6H_2O$]	2.02 g
Sulphuric acid sp-gr 1.84	2 ml
Distilled water	To make solution to one litre

These reagents shall be of the analytical reagent grade (*see* IS 250 : 1964 and IS 266 : 1993). Although the solution retains its tinctorial value for a considerable time, after prolonged storage, its optical clarity shall be examined before use, to ensure that no alteration has taken place.

NOTES

1 Diluted solution of annatto colour in amyl acetate is not stable in colour quality particularly if exposed to light, and measurement should be carried out on the diluted solution without undue delay.

2 In using the Tintometer, the maker's instructions shall be rigidly followed.

4.3 Solution of Annatto Colour in Water for Use in Cheese and Other Food Products

4.3.1 Water soluble annatto is prepared by extraction of the outer coating of the seeds with aqueous alkali (sodium or potassium hydroxide). In the preparation of the solution, potable water shall be used. A little quantity (0.5 to 3 percent) of alkali may be added (*see* IS 376 : 1986 and IS 296 : 1986).

4.3.2 यह घोल 15°सें. तापमान में उपयुक्त डिब्बों में साफ रहना चाहिए और यह स्थिति भंडारण में भी बनी रहनी चाहिए।

4.3.3 *रंग*

घोल का रंग 1 सेमी. सैल में मापा गया 0.1 एन सोडियम हाइड्रोक्साइड को 1 : 1 000 (*एम/वी*) पर पानी डालकर पतला करने पर उसका रंग उसी प्रकार होना चाहिए जैसा कि **4.2.3** में विनिर्दिष्ट किया गया है।

4.4 पहचान

4.4.1 *स्पेक्ट्रोफोटोमीटरी*

तोल में अन्नाटो अर्क 439, 470 और 501 एनएम पर क्लोरोफार्म इजीबिटस एबसारबेंस मैक्सिमा पर घुल जाता है। पानी में घुलनशील अन्नाटो अर्क 453 और 482 एनएम पर वॉटर इग्जीबिट एबरसारबेंस मैक्सिमा पर घुल जाता है।

4.4.2 *कॉलम क्रोमेटोग्राफी तथा कार-प्राइस की प्रतिक्रिया*

4.4.2.1 *एलूमिना कॉलम तैयार करना*

एक कांच की ट्यूब (7 × 200 मिमी. अंदरूनी व्यास) ग्लास वूल, एलूमिना (800-200 मेस) बेंजीन में मिलाकर एक छोटा क्रोमेटोग्राफी कॉलम तैयार करें ताकि साफ हुआ एलूमिना ट्यूब का 2/3 भाग भर दें। कॉलम को बेंजीन के साथ भर दें और रबड़ आऊटलेट ट्यूब या क्लैप का प्रयोग करते हुए उसकी निकलने की गति लगभग 30 बूंदें प्रति मिनट पर निश्चित करें जब तक कि बेंजीन की परत एलूमिना की सतह से 2-3 मिमी. ऊपर हो।

> टिप्पणी – यह सलाह दी जाती है कि एलूमिना के ऊपरी भाग में ग्लास वूल का प्लग लगाया जाए ताकि जब घोल मिलाया जाए तो उसकी तीव्रता को रोका जा सके और कॉलम के ऊपरी भाग पर घोल का संचय किया जा सके, जो क्रोमेटोग्राफिक कॉलम पर मामूली दबाव बनाएगा। सोखने की प्रक्रिया को ध्यानपूर्वक नियंत्रित किया जाना चाहिए ताकि एलूमिना में चैनलिंग को रोका जा सके। बेंजीन या अन्य घोल को एल्यूट करने से पूर्णत: बचा जाना चाहिए। यह आवश्यक है कि एलूमिना की सतह को द्रवीय परत से ढका जा सके।

4.4.2.2 *तेल में अन्नाटो अर्क*

0.1 प्रतिशत पोटेशियम डायक्रोमेट घोल के समानांतर रंग प्रदान करने के लिए बेंजीन में एलूमिनियम कॉलम के ऊपरी भाग में पर्याप्त नमूने के 3 मिली. घोल को मिलाएं। बेंजीन के साथ उसे तब तक हिलाते रहें जब तक कॉलम से पीला रंग न निकल जाए। कॉलम को 10 मिली. ड्राई क्लोरोफार्म से 3 बार धोएं फिर कार-प्राइस रीजेंट की 5 मिली. मात्रा मिलाएं और उसे कॉलम के ऊपरी भाग तक जाने दें। कॉलम के ऊपरी भाग में केसरी लाल जोन (बिक्सिन) तत्काल नीला-हरा बन जाता है।

4.4.2.3 *पानी में घुलनशील अन्नाटो*

घोल को ऐसिटिक *पीएच* परीक्षण पेपर (*पीएच* 1-2) बनाने के लिए 50 मिली. अलग फनल में 2 मिली. या 2 ग्राम घोल

4.3.2 The solution shall be clear and shall remain so on storage in suitable containers at a temperature of 15°C.

4.3.3 *Colour*

The colour of the solution in 0.1 N sodium hydroxide of potassium hydroxide at a dilution 1 : 1 000 (*m/v*) measured in a 1-cm cell shall be the same as that specified in **4.2.3**.

4.4 Identification

4.4.1 *Spectrophotometry*

Annatto extracts in oil, diluted with chloroform exhibits absorbance maxima at 439, 470 and 501 nm. Water soluble annatto extracts, diluted with water exhibit absorbance maxima at 453 and 482 nm.

4.4.2 *Column Chromatography and Carr-Price Reaction*

4.4.2.1 *Preparation of alumina column*

Prepare a small chromatograph column by filling a glass tube (7 × 200 mm internal diameter), stoppered with glass wool, with alumina (800 – 200 mesh) slurried in benzene so that the settled alumina fills about two-thirds of the tube. Fill the column with benzene and adjust the flow rate to about 30 drops/min using a rubber outlet tube and clamp until the benzene layer is 2-3 mm above the alumina surface.

> NOTE — It is advisable to place a glass-wool plug at the top of the alumina to prevent churning when solvent is added, and to apply a reservoir of solvent at the top of the column, which will exert a mild pressure on the chromatographic column. The suction must be carefully controlled to prevent channelling in the alumina. Avoid eluting the benzene or other solvent completely. It is necessary that the surface of the alumina is kept covered with liquid layer.

4.4.2.2 *Annatto extract in oil*

Add to the top of the alumina column 3 ml of a solution containing sufficient sample, in benzene, to impart a colour equivalent to a 0.1% potassium dichromate solution; elute with benzene until a pale yellow fraction is washed from the column. Wash the column with three 10-ml volumes of dry chloroform; then add 5 ml of Carr-Price reagent and allow it to run onto the top of the column. The orange-red zone (bixin) at the top of the column immediately becomes blue-green.

4.4.2.3 *Water soluble annatto*

Transfer 2 ml or 2 g to a 50-ml separatory funnel and add sufficient 2 N sulphuric acid to make the solution

स्थानांतरित करें और पर्याप्त 2 एन सल्फ्यूरिक एसिड मिलाएं। 50 मिली. बेंजीन में नॉरबिक्सिन की लाल प्रेसिपिटेट मिलाएं। पानी की परत को हटा दें और बेंजीन फेज को तब तक घोते रहें जब तक वह एसिड की प्रतिक्रिया नहीं देता। नॉरबिक्सिन के न धुले भाग को छलनी द्वारा छानकर निकाल दें और घोल को एनहाइड्रोस सोडियम सल्फेट पर सुखाएं। जैसा कि ऊपर बताया गया है 3-5 मिली. सूखे घोल को तैयार किए गए एलुमीना कॉलम के ऊपरी भाग में स्थानांतरित करें। बेंजीन के साथ कॉलम को हिलाएं। ड्राय क्लोरोफार्म की 10 मिली. मात्रा को 3 बार भरें और फिर कॉलम के ऊपरी भाग में 5 मिली. कार-प्राइस रिजेंट मिलाएं। नॉरबिक्सिन का केसरी-लाल रंग तत्काल नीला-हरा बन जाता है।

4.4.3 *क्रोमेटोग्राफी की पतली परत*

4.4.3.1 *तेल में अन्नाटो अर्क*

समाधान को स्पष्ट करने के लिए सिलीसा जैल में 12 प्रतिशत कैल्शियम सल्फेट, एसिटिक एसिड, क्लोरोफार्म तथा एकटोन (1 : 50 : 50 मात्रा) के घोल को मिलाएं। तेल में नमूना 3 या 4 लाल अथवा पीले धब्बे छोड़ता है। दोनों लाल धब्बे स्पष्टत: अन्य धब्बों से ज्यादा तीव्र दिखाई पड़ते हैं। दो धब्बों को बेंजीन में घोल दें ओर बिक्सिन धब्बे की पहचान **4.4.2.2** में दी गई पद्धति के अनुसार करें।

4.4.3.2 *पानी में घुलनशील अन्नाटो*

4.4.3.1 के अंतर्गत दर्शाए गए क्रोमेटोग्राम को तैयार करें। 3 या 4 धब्बे दिखाई देंगे जिसमें से दो धब्बों का रंग केसरिया और अन्य धब्बों का रंग केसरिया-पीला होगा। बेंजीन में केसरिया धब्बे को घोल दें एवं **4.4.2.3** में दी गई पद्धति के अनुसार उस धब्बे की पहचान करें जो नॉरबिक्सिन हो।

5 शुद्धता परीक्षण

5.1 सामग्री सारणी 1 में दी गई अपेक्षाओं के अनुरूप होगी।

acidic to *p*H test paper (*p*H 1-2). Dissolve the red precipitate of norbixin by mixing the solution with 50 ml of benzene. Discard the water layer and wash the benzene phase with water until it no longer gives an acid reaction. Remove any undissolved norbixin by centrifugation or filtration and dry the solution over anhydrous sodium sulphate. Transfer 3-5 ml of the dry solution to the top of an alumina column prepared as described above. Elute the column with benzene, three 10-ml volumes of dry chloroform, followed by 5 ml of Carr-Price reagent to the top of the column. The orange-red band of norbixin immediately becomes blue-green.

4.4.3 *Thin Layer Chromatography*

4.4.3.1 *Annatto extract in oil*

Use silica gel with 12 percent calcium sulphate as binding agent, and a mixure of acetic acid, chloroform and acetone (1 : 50 : 50, by volume) as developing solvent. The sample in oil produces at least 3 or 4 red or yellow spots. Two red spots are clearly more intense than the other spots. Dissolve the two spots in benzene and identify the spot that is bixin by the method given in **4.4.2.2**.

4.4.3.2 *Water soluble annatto*

Prepare a chromatogram as indicated under **4.4.3.1**. Three or four spots are obtained, of which 2 spots have an orange colour and the others an orange-yellow colour. Dissolve the orange spots in benzene and identify one of the spots that is norbixin by the method given in **4.4.2.3**.

5 PURITY TESTS

5.1 The material shall conform to the requirements given in Table 1.

सारणी 1 अन्नाटो के लिए अपेक्षाएँ

(*खंड* 5.1)

क्रम संख्या	लक्षण	अपेक्षाएँ	परीक्षण की पद्धति; संदर्भ देखें	
			इस मानक का अनुबंध	आईएस 1699 : 1994 का खंड देखें
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
i)	कैरटोनोइडस	0.24	ख	—
	क) तेल में अन्नाटो अर्क, बिक्सिन के रूप में अभिव्यक्त मात्रा, प्रतिशत, *न्यूनतम*			
	ख) पानी द्वारा घुलनशील अन्नाटो, नॉरबिक्सिन के रूप में अभिव्यक्त मात्रा, प्रतिशत, *न्यूनतम*	0.24	ख	—
ii)	आरसेनिक, मिग्रा./किग्रा., *अधिकतम*	3	—	15
iii)	लीड, मिग्रा./किग्रा., *अधिकतम*	10	—	15
iv)	कॉपर मिग्रा./किग्रा., *अधिकतम*	30	—	15
v)	भारी धातु, मिग्रा./किग्रा., *अधिकतम*	40	—	16

Table 1 Requirements for Annatto

(*Clause* 5.1)

Sl No.	Characteristic	Requirement	Method of Test, Ref to	
			Annex to This Standard	Ref to Clause of IS 1699 : 1994
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
i)	Carotenoids			
	a) Annatto extract in oil, expressed as bixin, percent by mass, *Min*	0.24	B	—
	b) Water-soluble annatto, expressed as norbixin, percent by mass, *Min*	0.24	B	—
ii)	Arsenic, mg/kg, *Max*	3	—	15
iii)	Lead, mg/kg, *Max*	10	—	15
iv)	Copper, mg/kg, *Max*	30	—	15
v)	Heavy metals, mg/kg, *Max*	40	—	16

6 पैकिंग, चिह्नांकन और भंडारण

6.1 पैकिंग

सामग्री को उपयुक्त डिब्बों में जहां तक संभव हो कम से कम हवा की गुंजाईश हो, ताकि धातु या अन्य अशुद्धताओं में सामग्री को दूषित होने से रोका जा सके और संभवत: प्रकाश से बचा जाना चाहिए।

6.2 चिह्नांकन

6.2.1 प्रत्येक डिब्बे पर स्पष्ट व अमिट रूप से निम्नलिखित सूचनाएं दी जानी चाहिएं:

क) सामग्री का नाम और प्रकार;

ख) उत्पादन का स्रोत;

ग) न्यूनतम निवल द्रव्य मात्रा;

घ) बैच या कोड नंबर;

ङ) उत्पादन की तिथि;

च) बिक्सिन तथा नॉरबिक्सिन मात्रा की घोषणा;

छ) इस आशय की टिप्पणी की सामग्री ठंडे स्थान पर रखी जाए, और कांच के बर्तन की स्थिति में प्रकाश से दूर रखा जाए; और

ज) अन्य कोई विवरण जैसे *तौल एवं माप मानकों (डिब्बाबंद वस्तुएं) नियम,* 1977/*खाद्य अपमिश्रण निवारण नियम,* 1955 के अंतर्गत उल्लिखित।

6.2.2 *भामाब्यूरो प्रमाणन मुहरांकन*

उत्पाद पर मानक मुहर भी लगाई जा सकती है।

6.2.2.1 मानक मुहर का उपयोग *भारतीय मानक ब्यूरो अधिनियम,* 1986 और उसके अन्तर्गत बनाए गए नियमों और विनियमों के प्रावधानों के अन्तर्गत नियंत्रित किया जाता है। विनिर्माताओं अथवा उत्पादकों को जिन शर्तों के अधीन मानक मुहर के उपयोग के लिए लाइसेंस मिल सकता है, उनका विवरण भारतीय मानक ब्यूरो से प्राप्त किया जा सकता है।

6 PACKING, MARKING AND STORAGE

6.1 Packing

The material shall be filled in suitable containers with as little air space as possible so as to preclude contamination of the contents with metals or other impurities, and should preferably exclude light.

6.2 Marking

6.2.1 Each container shall be marked legibly and indelibly to give the following information:

a) Name and type of the material;

b) Source of manufacture;

c) Minimum net fluid contents;

d) Batch or code number;

e) Date of manufacture;

f) Declaration of bixin and norbixin content;

g) A statement to the effect that the material should be kept in a cool place, and in the case of glass containers, away from light; and

h) Any other details as specified under the *Standards of Weights and Measures (Packaged Commodities) Rules,* 1977/ *Prevention of Food Adulteration Rules,* 1955.

6.2.2 *BIS Certification Marking*

The product may also be marked with the Standard Mark.

6.2.2.1 The use of the Standard Mark is governed by the provisions of the *Bureau of the Indian Standards Act*, 1986 and the Rules and Regulations made thereunder. The details of conditions under which the licence for the use of Standard Mark may be granted to manufacturers or producers may be obtained from the Bureau of Indian Standards.

6.3 भंडारण

सामग्री को ठंडे स्थान पर रखा जाएगा।

7 नमूने

7.1 परीक्षण के लिए सामग्री के प्रतिनिधि नमूने आईएस 1699 : 1994 के **4** में उल्लिखित पद्धति के अनुसार प्राप्त किए जाएंगे।

8 परीक्षण

8.1 परीक्षण सारणी 1 के कॉलम 4 एवं 5 में किए गए उल्लेख के अनुसार किए जाएंगे।

8.2 अभिकर्मकों की गुणवत्ता

यदि विनिर्दिष्ट न किया गया हो, अन्यथा परीक्षण में शुद्ध रसायन और डिस्टिलड वॉटर का उपयोग किया जाएगा (आईएस 1070 : 1992 देखें)।

टिप्पणी — 'शुद्ध रसायनों' से तात्पर्य उन रसायनों से है, जिनमें वे अपद्रव्य नहीं हैं जो विशलेषण के परिणामों को प्रभावित करते हैं।

6.3 Storage

The material shall be stored in a cool place.

7 SAMPLING

7.1 Representative samples of the material for the tests shall be drawn according to the method prescribed in **4** of IS 1699 : 1994.

8 TESTS

8.1 Tests shall be carried out as prescribed in col 4 and 5 of Table 1.

8.2 Quality of Reagents

Unless specified otherwise, pure chemicals and distilled water (*see* IS 1070 : 1992) shall be employed in tests.

NOTE — 'Pure chemicals' shall mean chemicals that do not contain impuries which affect the experimental results.

अनुबंध क

(*खंड* 2)

संदर्भित भारतीय मानकों की सूची

ANNEX A

(*Clause* 2)

LIST OF REFERRED INDIAN STANDARDS

आईएस सं.	*शीर्षक*
75 : 1973	अलसी का तेल, कच्चा एवं शुद्ध (*दूसरा पुनरीक्षण*)
231 : 1957	एमिल एसिटेट
250 : 1964	पोटेशियम बाईक्रोमेट, तकनीक और विश्लेषणात्मक रिजेंट (*पुनरीक्षित*)
266 : 1993	सल्फ्यूरिक एसिड (*तीसरा पुनरीक्षण*)
296 : 1986	सोडियम कार्बोनेट, एनहाइड्रस (*तीसरा पुनरीक्षण*)
376 : 1986	सोडियम हाइड्रोक्साइड, एनालिटिकल रीजेंट (*तीसरा पुनरीक्षण*)
542 : 1968	नारियल तेल (*दूसरा पुनरीक्षण*)
544 : 1968	मूंगफली का तेल (*दूसरा पुनरीक्षण*)
546 : 1975	सरसों का तेल (*दूसरा पुनरीक्षण*)
547 : 1968	सीसम का तेल (*दूसरा पुनरीक्षण*)
1070 : 1992	रिजेंट ग्रेड वॉटर (*तीसरा पुनरीक्षण*)
1699 : 1994	खाद्य रंगों के नमूनों और परीक्षण के लिए प्रक्रिया (*दूसरा पुनरीक्षण*)

IS No.	*Title*
75 : 1973	Linseed oil, raw and refined (*second revision*)
231 : 1957	Amyl acetate
250 : 1964	Potassium bichromate, technical and analytical reagent (*revised*)
266 : 1993	Sulphuric acid (*third revision*)
296 : 1986	Sodium carbonate, anhydrous (*third revision*)
376 : 1986	Sodium hydroxide, analytical reagent (*third revision*)
542 : 1968	Coconut oil (*second revision*)
544 : 1968	Groundnut oil (*second revision*)
546 : 1975	Mustard oil (*second revision*)
547 : 1968	Seasame oil (*second revision*)
1070 : 1992	Reagent grade water (*third revision*)
1699 : 1994	Methods of sampling and test for food colours (*second revision*)

आईएस सं.	*शीर्षक*
2491 : 1972	खाद्य संसाधन इकाइयों की स्वच्छता स्थिति के लिए कोड (*पहला पुनरीक्षण*)
3490 : 1965	नाईगरसीड तेल
3491 : 1965	कुसुम बीज तेल

IS No.	*Title*
2491 : 1972	Code for hygienic conditions for food processing units (*first revision*)
3490 : 1964	Nigerseed oil
3491 : 1965	Safflower oil

अनुबंध ख

[*सारणी* 1, *क्रम संख्या* (i)]

कॉरटेनाईडस का निर्धारण

ANNEX B

[*Table* 1, *Sl No.* (i)]

DETERMINATION OF CAROTENOIDS

ख-1 तेल में अन्नाटो अर्क

ख-1.1 नमूने को 0.1 से 1 ग्राम तक मात्रा के 100 मिली. वॉल्यूम के फ्लॉस्क में ठीक से नाप कर स्थानांतरित करें। क्लोरोफार्म में घोलें, क्लोरोफार्म वाले वॉल्यूम में मिलाकर मिक्स करें। इस घोल का एक मिली. भाग दूसरे 100 मिली. वॉल्यूम वाले फ्लास्क में स्थानांतरित करें तथा 100 मिली. घोल लें।

470 एनएम वेवलेंग्थ पर इस घोल के एब्जार्वेंस ए को मापें।

$$\text{कुल प्रतिशत कॉरटेनाईड्स (बिक्सिन के रूप में अभिव्यक्त)} = \frac{\text{ए}}{2.826} \times \frac{1\,000\,000}{\text{नमूना समूह (मिग्रा.)} \times 100}$$

ख-2 पानी में घुलनशील अन्नाटो

ख-2.1 नमूने का 0.1 से 1 ग्राम का सही तोल करें, 100 मिली. में 0.01 एन सोडियम हाइड्रोक्साइड मिलाएं और उसे पूर्णत: हिलाएं। इस घोल का 1 मिली. भाग अलग फनल में स्थानांतरित करें और उसमें 10 मिली. सोडियम क्लाराइड का घोल (10 में 1) मिलाएं और 50 मिली. पानी मिलाएं और उसमें 2 मिली. घुला हुआ सल्फ्यूरिक एसिड मिलाएं। बेन्जीन के प्रत्येक 10 मिली. के घोल का अर्क निकालते रहें जब तक कि बेंजीन अर्क रंगीन नहीं हो जाता। बेंजीन अर्क को मिला लें, प्रत्येक 5 मिली. पानी से उसे 3 बार धोएं और पानी की परत अलग होने दें। बेंजीन अर्क को जिसमें 2 मिली. बेंजीन की 3 पानी वाली परतें पानी वाले दूसरे अन्य फनल में स्थानांतरित करें। इसे बेंजीन अर्क में मिला दें। इस बेंजीन अर्क में पैट्रोलियम बेंजीन मिक्स की समान मात्रा मिलाएं और 0.01 एन सोडियम हाइड्रोक्साइड प्रत्येक 5 मिली. अर्क मिलाते रहें जब तक कि सोडियम हाइड्रोक्साइड घोल रंगीन नहीं हो जाता। इन घोलों को इकट्ठा करें और 100 मिली. में 0.01 सोडियम हाइड्रोक्साइड मिला दें। 453 एनएम वेवलेंग्थ पर एब्जार्वेंस ए का माप लें।

B-1 ANNATTO EXTRACT IN OIL

B-1.1 Transfer 0.1 to 1 g of the sample, accurately weighed, into a 100-ml volumetric flask. Dissolve in chloroform, dilute to volume with chloroform, and mix. Transfer a 1 ml portion of the solution into another 100-ml volumetric flask, and dilute to 100 ml.

Measure the absorbance A of this solution at the wavelength of 470 nm.

$$\text{Percent total carotenoid (expressed as bixin)} = \frac{A}{2.826} \times \frac{1\,000\,000}{\text{Sample mass (mg)} \times 100}$$

B-2 WATER-SOLUBLE ANNATTO

B-2.1 Weigh accurately 0.1 to 1 g of the sample, add 0.01 N sodium hydroxide to 100 ml, and shake thoroughly. Transfer 1 ml portion of the solution into a separating funnel, add 10 ml of sodium chloride solution (1 in 10) and water to 50 ml, and add 2 ml of diluted sulphuric acid. Continue to extract the solution with each 10 ml of benzene until the benzene extract is not coloured. Combine benzene extract, wash three times with each 5 ml of water, and allow to stand to separate the water layer. Transfer the benzene extract into another separating funnel containing the water layer three times with 2 ml of benzene, and combine the washings to the benzene extract. To the benzene extract, add an equal volume of petroleum benzene mix, and continue to extract with each 5 ml of 0.01 N sodium hydroxide until sodium hydroxide solution is not coloured. Combine extracts, and add 0.01 sodium hydroxide to 100 ml. Measure the absorbance A at the wavelength of 453 nm.

कुल प्रतिशत कॉरॅटेनाईड्स (नॉरबिक्सिन के रूप में अभिव्यक्त) $= \frac{\text{ए}}{3.473} \times \frac{1\,000\,000}{\text{नमूना समूह (मिग्रा.)} \times 100}$

Percent total carotenoid (expressed as norbixin) $= \frac{A}{3.473} \times \frac{1\,000\,000}{\text{Sample mass (mg)} \times 100}$

निर्वचन में विवाद की स्थिति में इस मानक का अंग्रेज़ी पाठ ही मान्य होगा।

In case of dispute in interpretation, English version of this standard shall be authentic.

Bureau of Indian Standards

BIS is a statutory institution established under the *Bureau of Indian Standards Act*, 1986 to promote harmonious development of the activities of standardization, marking and quality certification of goods and attending to connected matters in the country.

Copyright

BIS has the copyright of all its publications. No part of these publications may be reproduced in any form without the prior permission in writing of BIS. This does not preclude the free use, in the course of implementing the standard, of necessary details, such as symbols and sizes, type or grade designations. Enquiries relating to copyright be addressed to the Director (Publications), BIS.

Review of Indian Standards

Amendments are issued to standards as the need arises on the basis of comments. Standards are also reviewed periodically; a standard along with amendments is reaffirmed when such review indicates that no changes are needed; if the review indicates that changes are needed, it is taken up for revision. Users of Indian Standards should ascertain that they are in possession of the latest amendments or edition by referring to the latest issue of 'BIS Catalogue' and 'Standards : Monthly Additions'.

This Indian Standard has been developed from Doc No.: FAD 8 (256).

Amendments Issued Since Publication

Amend No.	Date of Issue	Text Affected

BUREAU OF INDIAN STANDARDS

Headquarters:

Manak Bhavan, 9 Bahadur Shah Zafar Marg, New Delhi 110002
Telephones : 2323 0131, 2323 3375, 2323 9402 *Website*: www.bis.org.in

Regional Offices:		*Telephones*
Central :	Manak Bhavan, 9 Bahadur Shah Zafar Marg NEW DELHI 110002	2323 7617 2323 3841
Eastern :	1/14 C.I.T. Scheme VII M, V. I. P. Road, Kankurgachi KOLKATA 700054	2337 8499, 2337 8561 2337 8626, 2337 9120
Northern :	SCO 335-336, Sector 34-A, CHANDIGARH 160022	60 3843 60 9285
Southern :	C.I.T. Campus, IV Cross Road, CHENNAI 600113	2254 1216, 2254 1442 2254 2519, 2254 2315
Western :	Manakalaya, E9 MIDC, Marol, Andheri (East) MUMBAI 400093	2832 9295, 2832 7858 2832 7891, 2832 7892

Branches: AHMEDABAD. BANGALORE. BHOPAL. BHUBANESHWAR. COIMBATORE. DEHRADUN. FARIDABAD. GHAZIABAD. GUWAHATI. HYDERABAD. JAIPUR. KANPUR. LUCKNOW. NAGPUR. PARWANOO. PATNA. PUNE. RAJKOT. THIRUVANANTHAPURAM. VISAKHAPATNAM.

Published by BIS, New Delhi